



Sveriges lantbruksuniversitet
Fakulteten för Naturresurser och lantbruksvetenskap
Institutionen för Växtbiologi och skogsgenetik



Statens kriminaltekniska laboratorium
Biologienheten

Kontinuerlig kontroll av bakgrunds-DNA vid Statens Kriminaltekniska Laboratorium

Pernilla Digréus

Handledare: Mattias Thelander, Institutionen för växtbiologi och skogsgenetik

Extern handledare: Ricky Ansell, Biologienheten, SKL

Examinator: Jens Sundström, Institutionen för växtbiologi och skogsgenetik

Självständigt arbete i biologi • 15 hp • Grundnivå C
Program: Bioteknologi

Uppsala 2011

Nyckelord: Kontaminationskontroll, kontamination, DNA, provtagningsprotokoll, klassificeringsmodell, bakgrunds-DNA, SKL.

ISSN 1651-5196 Nr 121

Kontinuerlig kontroll av bakgrunds-DNA vid Statens Kriminaltekniska laboratorium

Pernilla Digréus

Handledare: Mattias Thelander, Institutionen för växtbiologi och skogsgenetik

Extern handledare: Ricky Ansell, Biologienheten, SKL

Examinator: Jens Sundström, Institutionen för växtbiologi och skogsgenetik

Omfattning: 15hp

Nivå och fördjupning: Grundnivå C

Kurstitel: Självständigt arbete i biologi

Kurskod: EX0689

Program/Utbildning: Bioteknologi

Utgivningsort: Uppsala

Utgivningsår: 2011

Elektronisk publicering: <http://stud.epsilon.slu.se/>

ISSN: 1651-5196 Nr 121

Nyckelord: Kontaminationskontroll, kontamination, DNA, provtagningsprotokoll, klassificeringsmodell, bakgrunds-DNA, SKL.

SLU, Sveriges Lantbruksuniversitet

Fakulteten för naturresurser och lantbruksvetenskap

Institutionen för växtbiologi och skogsgenetik

Abstract

Today DNA evidence has a great role for most types of criminal investigations and in many cases it can be crucial to the outcome of a case. In Sweden, the Biology Department at the Swedish National Laboratory of Forensic Science (SKL) takes care of most of the materials taken from crime scenes around the country. The materials received by the SKL Biology Unit must be handled with great caution, since current methods for DNA-tracing are extremely sensitive. A DNA-trace can easily become contaminated with irrelevant DNA from individuals, work areas, equipment and other materials and contamination can lead to highly adverse effects.

In order to monitor the level of background DNA in the laboratory facilities used for serious crime investigations at SKL, this project was intended to design a proposal to routines for testing and evaluation of test results. Through contact with other countries' counterpart to SKL, and through discussions with several co-workers at SKL, a sampling protocol was developed. This protocol was then used for DNA monitoring in one of SKL's spaces for serious criminal investigations. Parts of the test results were then used as a basis for the design of a classification model. The classification model was based on three parameters that were considered important in the context of background DNA and contaminations. These were (i) the number of detected alleles, (ii) the number of STR markers with alleles detected, and (iii) the peak height of the detected alleles.

The presented scheme for contamination monitoring worked as intended, and the classification model correlated well with manual evaluation of corresponding sampling results. Apart from some exceptions, the background level of DNA looked as expected in the laboratory room where the test samples were taken.

The project has increased awareness and opened for discussion about contamination risks in the lab.

Sammanfattning

DNA-spår har idag stor vikt i de flesta sorters brottsutredningar och kan i många fall vara helt avgörande för utgången i ett brottmål. I Sverige är det Biologienheten på Statens Kriminaltekniska Laboratorium (SKL) som gör de flesta spårsökningar och spårsäkringar av material tagna från brottsplatser. Materialen som kommer in till SKL:s Biologienhet måste hanteras med stor försiktighet, eftersom dagens analysmetoder för DNA är otroligt känsliga. Ett spår kan lätt bli kontaminerat med irrelevant DNA från personer, lokaler, utrustning och andra material, och en kontamination kan leda till högst oönskade effekter.

För att kunna övervaka bakgrunds nivåer av DNA i laboratorielokalerna för grova brottsutredningar på SKL syftade detta projekt till att utforma ett förslag till rutiner för provtagning och klassificering av provresultat. Genom kontakt med andra länders motsvarighet till SKL och genom diskussioner med flera medarbetare på SKL, togs ett provtagningsprotokoll fram. Detta användes sedan för en testprovtagning i ett av SKL:s utrymmen för grova brottsutredningar. Testprovtagningen användes sedan delvis som grund för utformningen av en klassificeringsmodell. Klassificeringsmodellen utgick från tre parametrar som ansågs viktiga ur kontaminationssynpunkt. Dessa var (i) antal detekterade alleler, (ii) antal STR-markörer med detekterade alleler, samt (iii) topphöjden på de detekterade allelerna.

Det framtagna programmet för kontaminationsövervakning fungerade tillfredsställande, och klassificeringsmodellen korrelerade väl med manuell utvärdering av motsvarande provtagningsresultat. Med vissa undantag såg bakgrundsnivåerna av DNA ut som förväntat i laboratorielokalen där testprovtagningen utfördes.

Projektet har lett till ökad medvetenhet och öppnat upp för diskussioner kring kontaminationsrisker på lab.

Innehållsförteckning

Abstract	3
Sammanfattning	4
Innehållsförteckning	5
1. Introduktion	7
2. Syfte	7
3. Bakgrund	7
3.1 Då och nu	7
3.2 Kontamination	9
3.3 Eliminationsdatabaser	10
3.4 Leverantörskontaminationer	11
3.5 Laboratorielokalerna	11
3.6 Städ rutiner	13
4. Material och metoder	13
4.1 Kommentarer till rapportstruktur	13
4.2 Provtagning	14
4.2.1 Topsning	14
4.2.2 Miniteljning	15
4.2.3 Extraktion, kvantifiering, amplifiering, separation, detektion och typbestämning	15
5. Resultat och diskussion	15
5.1 Framtagning av provtagningsprotokoll	15
5.1.1 Förstudier	15
5.1.2 Definiering av provtagningsprotokoll	16
5.1.3 Utförande av föreslaget provtagningsprotokoll	17
5.1.4 Utvärdering av provtagningsprotokoll	17
5.1.5 Det färdiga provtagningsprotokollet	18
5.2 Framtagning av klassificeringsmodell	19
5.2.1 Första parametern; antal alleler	19
5.2.2 Andra parametern; antal markörer	19
5.2.3 Tredje parametern; topphöjden	20
5.2.4 Slutmodell	20
5.2.5 Utvärdering av klassificeringsmodellen	21
5.3 Provtagningsresultat	22
5.3.1 ESX 16	22
5.3.2 Semi-LCN, första körningen	23
5.3.3 Semi-LCN, andra körningen	23
5.3.4 Reflektion över resultaten	24

5.4 Nya frågeställningar och förslag till åtgärder	24
6. Slutsatser	25
7. Tack.....	26
8. Referenser	27
9. Appendix 1.....	29
10. Appendix 2.....	31
11. Appendix 3.....	37

1. Introduktion

DNA-spår har idag stor tyngd i de flesta sorters brottsutredningar (van Oorschot, 2010). Att en persons DNA finns, eller inte finns, på en plats eller ett föremål kan vara helt avgörande för utgången i ett enskilt brottmål. DNA-spår kan också användas för att koppla samman olika brott, om en persons DNA finns på flera platser. Ett DNA-spår kan också visa på att en för brottet misstänkt person är oskyldig.

Teknikerna att ta tillvara, rena fram och analysera DNA förbättras kontinuerligt. Idag räcker det med mindre än 0,4 ng DNA för att med rutinmetoder få fram en persons DNA-profil. Med specialtekniker räcker det med ännu mindre DNA och tiotalet celler kan vara nog för en full profil (Ansell, 2005). Att så små mängder DNA kan ha så stor betydelse skapar samtidigt vissa problem. Från att ett biologiskt spår avsätts till att det analyseras är det utsatt för risken att bli kontaminerat. Rutty et al. visade att det räckte med att en person utan skyddskläder rörde lite på armarna, vred på huvudet och ändrade tyngdpunkten från ena foten till den andra för att tillräckligt mycket DNA för en full profil kunde hittas på golvet framför personen ifråga (Rutty, 2003). Detta visar tydligt att ett spår kan kontamineras mycket lätt om man inte hanterar det på rätt sätt. För ett spår med mycket låg DNA-koncentration kan dessutom en relativt liten kontamination vara förödande, då det kontaminerande DNA:t helt kan överskugga spår-DNA:t i resultatet.

På Statens Kriminaltekniska Laboratorium (SKL) tas material från de flesta brottsplatser i Sverige omhand. I laboratorielokalerna på Biologienheten söker, säkrar och analyserar man spåren från materialen som kommit in, varefter profilerna utvärderas och eventuella jämförelser görs innan besked, så kallade sakkunnigutlåtanden, skickas till polisen. SKL jobbar ständigt med att försöka minska kontaminationsrisken vid hanteringen av material och prover på lab, men på bland annat laboratorierna för spårsökning och spårsäkring vid grova brottsutredningar har man inte haft någon kontinuerlig kontaminationsövervakning.

2. Syfte

Syftet med detta projekt var att ta fram ett förslag till program för kontaminationsövervakning i laboratorielokalerna för spårsökning och spårsäkring i grova brottsutredningar på Statens Kriminaltekniska laboratorium (SKL). Detta program skulle innehålla ett provtagningsprotokoll med en definierad provtagningsrutin för kontinuerlig kontaminationsövervakning, samt en klassificeringsmodell med definierad terminologi/standardisering, för att kunna utvärdera resultaten från provtagningen. Provtagningsprotokollet och klassificeringsmodellen skulle också prövas genom en provtagning i en av de laboratorielokaler för spårsökning och spårsäkring som grupperna för grova brottsutredningar använder på SKL.

3. Bakgrund

3.1 Då och nu

SKL är en svensk, statlig, opartisk myndighet under rikspolisstyrelsen. Vid SKL finns flera operativa enheter, Dokument- och informationsteknik, Kemi och teknik samt Biologi och Droganalys¹. Dessa enheter jobbar med att analysera bevismaterial från brottsplatser runt om i landet. Biologienheten, platsen för detta projekt, arbetar med DNA-profilering. Det betyder att de söker, säkrar, analyserar och utvärderar DNA-spår på olika material, för att med en viss säkerhet kunna säga om DNA:t på materialet kommer från en viss person, eller inte.

¹ Information hämtad från SKL:s hemsida; <http://www.skl.polisen.se/sv/Vad-gor-SKL/> 2011-04-19

1989 var första gången i Sverige som DNA användes som ett avgörande bevis i en brottsutredning (Ansell, 2005). Sedan dess har metoderna och teknikerna utvecklats och förfinats. En DNA-profil består av ett visst antal amplifierade Short Tandem Repeats (STR:s), eller alleler. Alleler/STR:s är små repetitiva DNA-fragment, där varje allel består av ett visst antal upprepningar av tre till fem nukleotider, till exempel en tetramer upprepad fem gånger: TATCTATCTATCTATCTATC. En person har alltid två uppsättningar alleler i ett STR-område (en från mamma och en från pappa). Hur lång en allel är, det vill säga antalet gånger nukleotidsekvensen repeteras är relativt variabelt (polymorft) mellan individer. Dessutom kan en individ antingen ha två lika alleler (personen är då homozygot i det området), eller olika alleler (personen är heterozygot). Detta gör att om man amplifierar flera STR-områden och sedan sätter samman resultaten av fragmentstorleksanalysen i en gemensam DNA-profil kan man skilja personer från varandra med en viss säkerhet utifrån en given referenspopulation (Ansell, 2005).

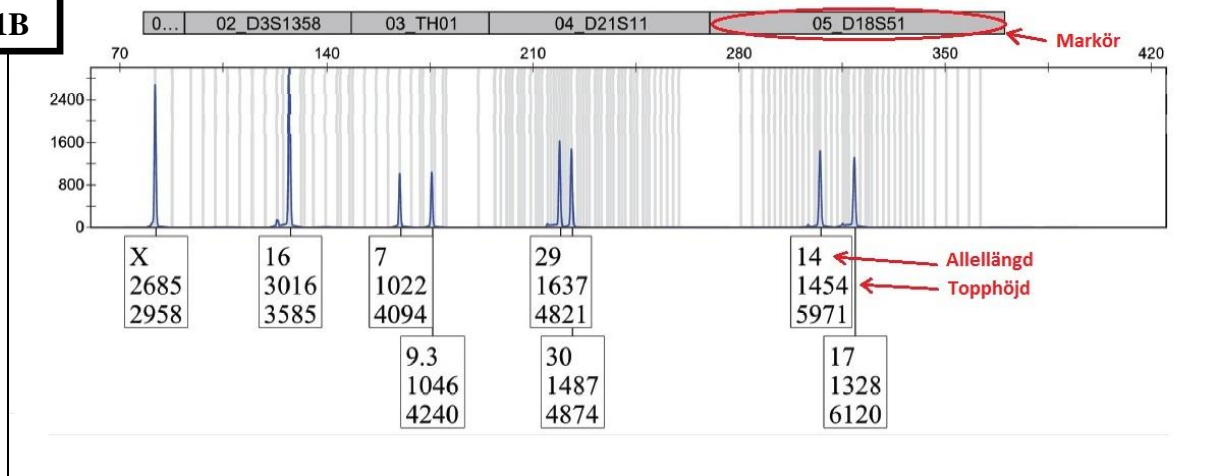
Vid typbestämning tar man fram en DNA-profil från ett material och/eller direkt från en person (jämförelseprov). En DNA-profil består vanligtvis av en rad siffror. Varje siffra talar om hur många gånger en allels nukleotidsekvens, i en bestämd STR-markör (annat ord för STR-område), har upprepats. Från exemplet i figur 1A kan vi se att i markör D3 är personen homozygot och har två alleler med allellängden 16 (nukleotidsekvensen har alltså repeterats 16 gånger). I markör D21 är personen heterozygot, med en allel med allellängden 29 och en allel med allellängden 30.

För att få siffrorna till DNA-profilen måste provet först extraheras, kvantifieras, amplifieras, separeras och slutligen detekteras. Detektionen görs med en laser och resultatet sammanställs i ett elektroferogram (figur 1B). I elektroferogrammet (eller kort, "kurvan") kan man se de olika markörerna, och i markörområdena kan man se de detekterade allelerna. Under alleltopparna finns små rutor med siffror. Den översta siffran talar om hur lång allelen är (detta är alltså siffran man ser i sammanställningen som kallas DNA-profil). Den mellersta siffran talar om hur många rfu toppen är. Rfu, som står för relative fluorescent unit, är ett mått på höjden av en alleltopp, vilket motsvarar mängden DNA med den specifika allel-längden som detekterats. Den understa siffran fungerar som ett tidsmått och hjälper analytikerna att hitta eventuella "falska" toppar (toppar tillhörande en annan detektionsmarkör). Vid en forensisk utvärdering av en kurva finns det vissa gränser för hur hög en topp måste vara för att räknas som godkänd. En detekterad allel blir alltså inte automatiskt inkorporerad i en DNA-profil, vilket förklarar att bara en partiell DNA-profil erhålls i vissa fall.

1A

Am	D3	TH	D21	D18
X	16	7	29	14
		9,3	30	17

1B



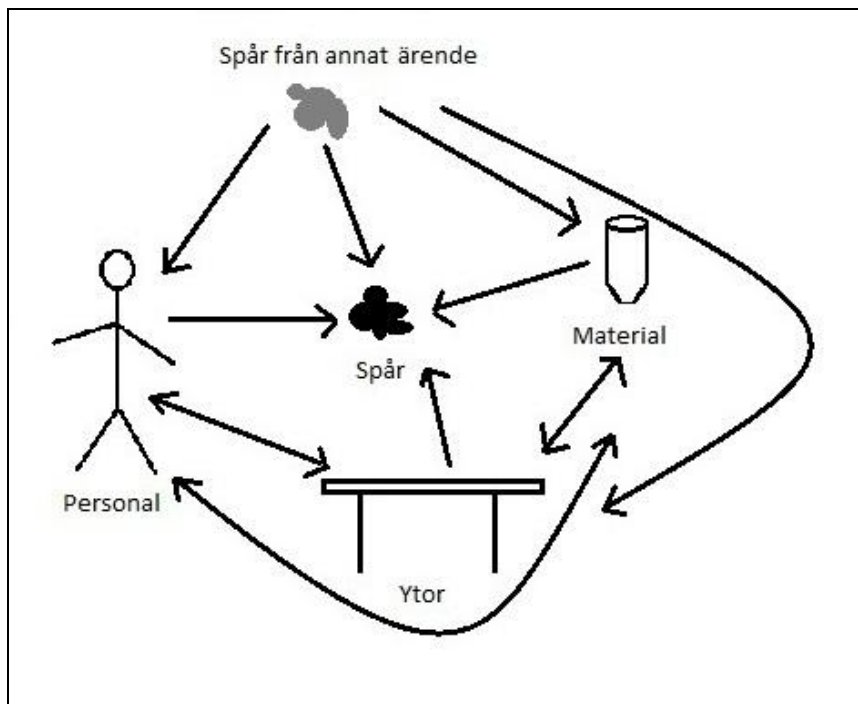
Figur 1. A: Exempel på en del av en DNA-profil. I figuren syns fem olika markörer med alleler. B: Del av elektroferogram. I figuren är en markör, en allellängd samt en topphöjd markerad.

Under våren 2011 byter SKL typbestämningskit för DNA-profileringen. Det nya kitet heter Promega PowerPlex® ESX 16, eller kort ESX 16 (Albinsson, 2011). Det nya kitet innebär bland annat att antalet STR-markörer (det vill säga STR-områden) som amplifieras utökas till 15 stycken, samt Amelogenin (könsmarkör), istället för de 10 som varit standard innan. När det nya kitet tas i bruk görs också en utökning av det standardiserade antalet PCR-cykler, från nuvarande 28 cykler till 30 (Albinsson, 2011). Syftet med ett nytt typbestämningskit är att man i standardanalysen ska förbättra uteslutningskapaciteten, kunna detektera och analysera mindre mängd DNA, samt få användbara resultat från delvis nedbrutet DNA och material som bär hämmare (det vill säga ämnen som hämmar PCR-amplifieringen). Utvidgningen av antalet STR-markörer medför även att risken för att en fullständig DNA-profil från en person överensstämmer med ett helsyskons profil sjunker från tidigare 1 på 10 000, till 1 på 500 000 (Albinsson, 2011). En känsligare teknik är dock känsligare även för kontaminationer, eftersom mindre mängder DNA kan detekteras.

3.2 Kontamination

I forensiska sammanhang beskrivs en kontamination som DNA som överförs efter brottstillfället (Gill, 2002). En kontamination av ett spår kan alltså ske på brottsplatsen, vid transport, vid eventuella ”mellanstopp” (polisen, sjukhus, bårhus etcetera) samt på laboratoriet (Ansell, 2005). I det här projektet läggs fokus på det sistnämnda, det vill säga kontaminationer som kan ske efter det att spåret kommit till laboratoriet.

Laboriebaserad kontaminering av spår kan komma från en mängd olika källor; personal (såsom laboratorie- och städpersonal), besökare, ytor där materialet placeras för spårökning och spårökning, andra spår från samma eller andra ärenden som hanteras i närheten, engångsmaterial (såsom handskar, mikrofugrör, pipetter, tops och minitejper) som används för undersökning och analys, och så vidare (Ansell, 2005). De potentiella laboriebaserade kontaminationsriskerna sammanfattas i figur 2.



Figur 2. Sammanställning av potentiella laboriebaserade kontaminationsrisker till, och runt ett spår.

Kontaminerande DNA som blandas med spårets DNA resulterar i en så kallad blandbild och leder till ett svårtolkat analysvar. Kontaminerande DNA som ger upphov till en regelrätt DNA-profil (själva spåret ger inget DNA) riskerar med stor sannolikhet att tolkas som ett viktigt DNA-spår. Ett sådant i sammanhanget helt irrelevant DNA-spår kan vara mycket vilseledande och möjligen helt förödande för en brottsutredning. Om samma person dessutom kontaminerat vid två eller flera tillfällen kan det leda till att polisen felaktigt kopplar samman brott som inte har med varandra att göra. Effekterna är givetvis mycket oönskade (se ”Leverantörskontaminationer” för ett exempel).

Tidigare har laboratorielokalerna för biologisk spårsökning och spårsäkring i grova brottsutredningar inte haft någon rutin för kontaminationsprovtagning. Med det nya ESX 16-kitet anses det dock nödvändigt att utforma ett sådant program för att få en överblick över närvaron av DNA på valda ytor i labbmiljön, samt att få möjligheten att följa upp förändringar i laborations- och städrutiner. För att göra det möjligt att jämföra resultaten mellan olika provtagningstillfällen och även olika provtagningsplatser (olika laboratorielokaler) krävs det också någon form av fastställd provtagningsrutin och terminologi/standardisering så att proverna vid varje provtagningstillfälle tas på samma sätt och de erhållna resultaten tolkas enhetligt.

3.3 Eliminationsdatabaser

En eliminationsdatabas innehåller DNA-profiler från personalen som direkt eller indirekt har, eller kan komma att ha, kontakt med bevismaterial för biologisk spårsökning och spårsäkring. Databasen är till för att undvika att kontaminationer från personal felaktigt bedöms som viktiga spår i en brottsutredning. I Sverige används eliminationsdatabasen som en hållplats, genom vilken alla okända profiler (det vill säga profiler som man inte direkt kan koppla till en misstänkt eller målsägare i en utredning) från ett brottsmål körs, innan profilen jämförs med

och läggs in i spårregistret (Widén, 2011). Spårregistret är en databas med DNA-profiler från spår som säkrats under en brottsutredning, men som inte kan kopplas till en person².

I SKL:s eliminationsdatabas finns DNA-profiler från samtliga medarbetare på Biologienheten, samt vissa personer från andra enheter vid SKL. Inom kort kommer också DNA-profiler från anställda hos kit-tillverkaren Promega att finnas i eliminationsdatabasen, och redan nu finns profiler från anställda hos förbrukningsmaterialstillverkaren Nordkrim³. I databasen finns även DNA-profiler från provtagna besökare och tillfälligt närvarande personer (till exempel hantverkare) på SKL:s Biologienhet. SKL välkomnar dessutom eget initiativ från spårsäkrande polis som vill lägga in sin profil i databasen (Widén, 2011).

3.4 Leverantörskontaminationer

Forensiska laboratorier, likväl som kriminaltekniker och annan polis på brottsplatser runt om i världen använder sig av stora mängder engångsmateriel; allt från handskar och munskydd till plaströr och skalpeller. Alla dessa material är potentiella kontaminationsrisker och måste därför genom hela tillverkningsprocessen, paketeringen, transporten och förvaringen hanteras med stor medvetenhet och försiktighet med tanke på biologisk kontamination. Risken finns annars att kontaminationer felaktigt bedöms som intressanta spår i pågående brottsutredningar, vilket var vad som hände i Tyskland och Österrike mellan 1993-2009. Ett flertal, högst olika brott visade kopplingar genom en kvinnlig DNA profil som återfanns på alla brottsplatser. Eftersom brotten och omständigheterna kring dessa var så olika sattes en stor utredning igång för att spåra den misstänkta felkälla som gjorde att samma DNA-profil hittades gång på gång. Utredningen resulterade så småningom i att kvinnan identifierades som en anställd på ett företag som framställde spårsäkringskit innehållande bomullstopps (Neuhuber, 2009). Många av de fall där kvinnans profil hittades kunde i slutändan ändå klaras upp trots kontamineringen, men det är inte svårt att föreställa sig att utredningarna blev mer komplicerade och tidskrävande än vad som hade varit nödvändigt.

Efter incidenten i Tyskland och Österrike har medvetenheten ökat hos både tillverkarna och användarna av förbrukningsmaterial, och flera åtgärder har föreslagits och tagits i bruk. Det händer dock fortfarande att material oavsiktligt kontamineras av personal, varför de flesta tillverkare gör stickprov (Gill, 2010).

Diskussioner förs också om en internationell eliminationsdatabas som innehåller DNA-profiler från anställda på fabriker och företag som tillverkar materiel som används i laboratorier och av polisen på brottsplatser (Gill, 2010). En sådan databas skulle i så fall användas när ett laboratorium misstänker en kontamination från materiel. Problemet med en sådan databas är att man som sagt måste *misstänka* en kontamination, man skulle alltså inte upptäcka enstaka, slumpvisa kontaminationer.

Anledningen till att en internationell databas som denna inte skulle kunna användas som Sveriges eliminationsdatabas beror först och främst på att olika länder har olika lagstiftning gällande DNA-register och personlig integritet.

3.5 Laboratorielokalerna

Laboratorielokalerna för biologisk spårsökning och spårsäkring i grova brottsutredningar är utformade på ett sätt så att flera brottsärenden kan analyseras samtidigt i ett och samma rum.

² Information hämtad från SKL:s hemsida; <http://www.skl.polisen.se/sv/For-rattsvasendet/Om-DNA-analyser/DNA-Register/> 2011-05-23

³ Muntlig kommunikation med Ricky Ansell, Verksamhetsexpert, Forensisk Generalist, SKL.

Rum 3313, laboratorielokalen där alla provtagningar för detta projekt ägde rum, har så kallade ”rena och smutsiga ytor”. Vid en ”ren yta” används skyddsrock, hårnät, munskydd samt engångshandskar. Vid en ”smutsig yta” används inte handskar, men klädseln är i övrigt densamma (figur 3A).

Rum 3313 har två större arbetsbord placerade mitt i rummet och två lite mindre invid ytterväggen. Dessa bord anses vara rena ytor, på vilka spårmaterial hanteras, men först efter att borden rengjorts med 45 % isopropylalkohol och ett täckpapper placerats på bordet. När ett material är färdighanterat packas det ner, täckpappret slängs och hela bordsytan rengörs igen.

I rum 3313 finns också två bord med datorer, placerade i två av hörnen i det rektangulära rummet. Datorerna finns i lokalen bland annat för att personalen lätt skall kunna föra den dokumentation som är nödvändig vid brottsärendehantering. Dessa bord samt datorerna med diverse tillbehör klassas som smutsiga ytor.

Förutom arbets- och databord finns också ett kyl- och frysskåp, en diskbänk, ett dragskåp, ett par lådhurtsar, ett flertal hyllor för diverse kanistrar och material, ett flertal väggfasta ställ för lådor med engångshandskar (figur 3B), två väggfasta ställningar för täckpapper, en mobil pulpet samt en mobil vagn för CrimeScopet. Ett CrimeScope är en ljuskälla med olika våglängdsval, exempelvis våglängden 410nm; en våglängd som gör att kroppsvätskor (så som blod och sperma) fluorescerar (figur 3C) (Semper, 2002). Förutom dessa relativt fasta objekt finns också ett flertal mindre objekt som används vid och/eller runt hanteringen av spårmaterial. Exempel på sådana objekt är en större tejphållare, små så kallade förpackningsknivar (mindre mattniv) och en kamera. I taket finns ett flertal ventilationstrummor och lampor och runt de två stora borden i mitten av rummet finns en skena för en kabel. Kabeln används för att ge ström åt CrimeScopet och gör att ljuskällan kan användas var som helst i rummet, utan att kabeln utgör ett hinder på golvet. Figur 3D visar en översikt över laboratorielokalen.



Figur 3. A: Dator och databord – exempel på ”smutsig yta” i en laboratorielokal. B: Väggfast ställ för lådor med engångshandskar. C: CrimeScope – ljuskälla (410nm). D: Översiktssbild över laboratorielokal för grova brottsutredningar, sett från ovan. OBS! Bilden tagen i rum 3315. (Foton: SKL)

3.6 Städrutiner

Vid all städning av lokaler för spårsökning och spårsäkring bär personalen (både laboratorie- och städpersonal) engångshandskar, rock, munskydd och hårnät.

Laboratorielokalerna för spårsökning och spårsäkring städas en gång i veckan av laboratoriepersonalen. Denna veckostädning inkluderar rengörning av alla tillgängliga ytor, så som dragskåp, bänkar, fönsterbrädor och hyllor med 45 % isopropylalkohol (Biologienheten, 2010c).

Lokalerna städas också regelbundet av städpersonal. Städpersonalen använder en särskild städvagn, vilken endast används i lokalerna för grova brottsutredningar. Personalen våttorkar golven två gånger i veckan, tömmer papperskorgar varje dag, rengör tvättställ och fyller på med material en gång i veckan. De torkar också av lister, stolar, handtag, bordsben, lysknappar och liknande en gång i veckan. Två gånger om året storstädas lokalerna av städpersonal. Då rengörs ytor som golv, lister, väggar, taklampor, ventiler, rör och ramper, ställningar till bord och dragskåp, övre ytor på skåp, dragskåp och kyl/frys samt alla hyllor och fönsterbrädor i lokalen (Biologienheten, 2010c). Efter en storstädning får rummet stå orört i minst ett dygn, varefter laboratoriepersonalen rengör alla tillgängliga ytor två gånger med 45 % isopropylalkohol⁴.

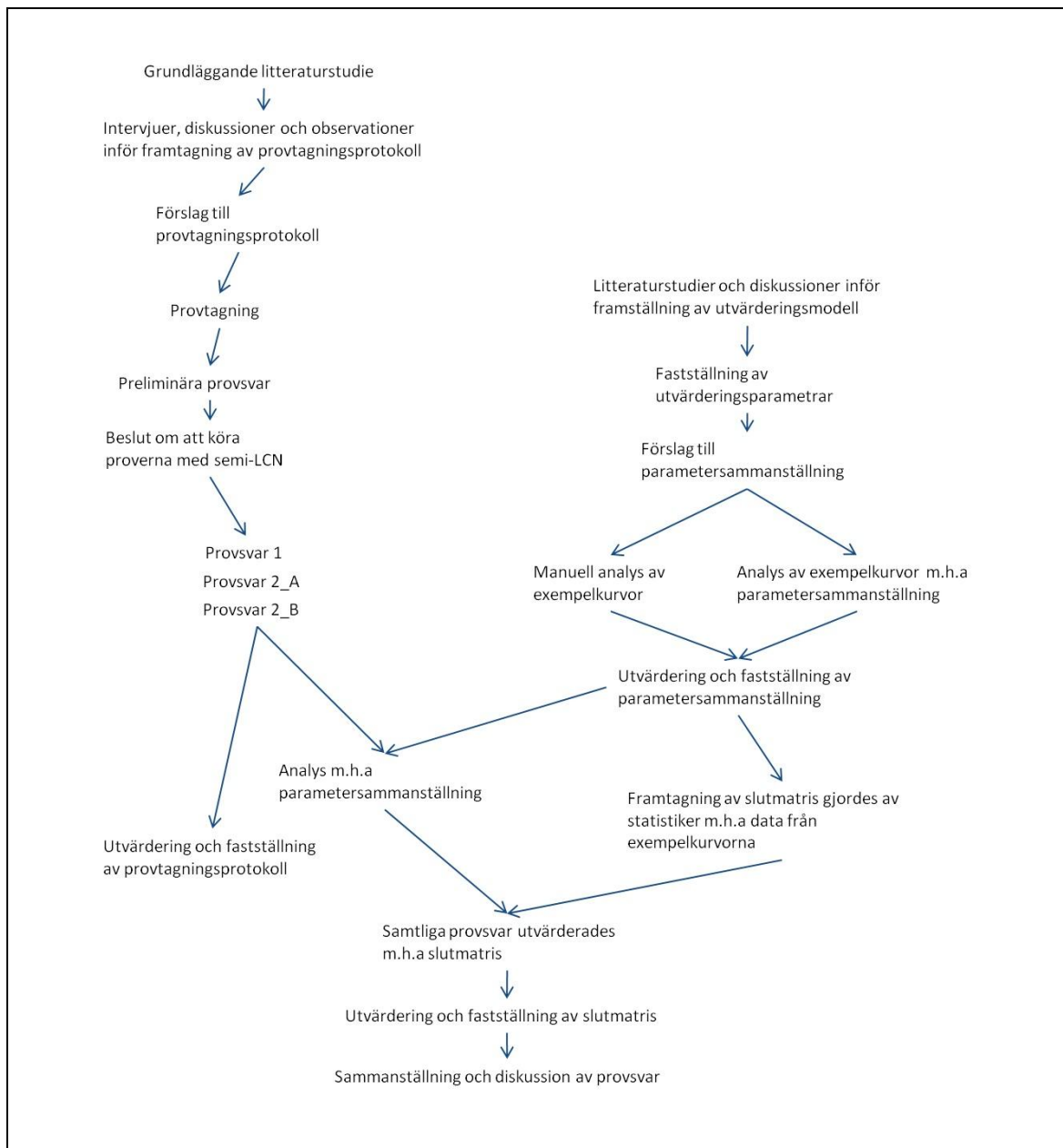
4. Material och metoder

4.1 Kommentarer till rapportstruktur

Att hitta en klar och logisk struktur på rapporten har tidvis varit utmanade, eftersom den berör både framtagandet, användandet och utvärderingen av såväl provtagningsprotokoll som klassificeringsmodell. Jag har valt att hålla ”material och metoder” mycket kort, och bara berört användandet/utförandet av provtagningsprotokollet under denna rubrik. Detta för att framtagandet och utvärdering av protokoll och modell främst består av diskussioner, vilket placerar dessa stycken under den hopslagna rubriken ”Resultat och diskussion”. Jag hoppas att denna struktur har gjort rapporten så lättläst och förståelig som möjligt.

För ytterligare förståelse för arbetsflödet i projektet finns ett flödesschema i figur 4.

⁴ Muntlig kommunikation med Johanna Nilsson, laborant tillhörande grupp för grova brottsutredningar, SKL.



Figur 4. Flödesschema som beskriver projektets arbetsgång.

4.2 Provtagning

4.2.1 Topsning

Totalt topsades 38 ytor och föremål i laboratorielokalen 3313, ett av flera rum för spårsökning och spårsäkring i grova brottsutredningar. Alla ytor/föremål som topsades tillhörde en av de tre klasserna ”smutsiga, rena och gråzons ytor”, och alla klasser var representerade. Provtagningen skedde med dubbeltopsning, se förklaring nedan (Sweet, 1997), där båda topsen sedan klipptes ner i samma provrör. Alla ytor större än 1dm^2 begränsades till en provtagning på 1dm^2 . För ytor/föremål som hade en mindre yta än 1dm^2 , topsades hela ytan. Se Appendix 1 för samtliga ytor/föremål som topsades.

4.2.2 Miniteljning

Ett antal minitejper, se förklaring nedan (*Personlig kommunikation*, Ricky Ansell), sattes också upp i rummet; fyra stycken satt uppe i 24 timmar och fyra stycken satt uppe i sju dygn, se Appendix 1 för ytterligare information.

4.2.3 Extraktion, kvantifiering, amplifiering, separation, detektion och typbestämning

Efter provtagningen gjordes provanalyserna enligt fastställda rutiner av laboratoriepersonal vid SKL. Detta för att hanteringen skulle ske så korrekt och snabbt som möjligt, eftersom huvudfokuset för detta projekt inte låg vid analyseringen utan vid provtagning och resultatutvärdering.

Proven extraherades med Chelex® 20 % (Biologienheten, 2010a), kvantifierades med Realtids-PCR (Applied Biosystems Quantifiler™ Human-kit) (Biologienheten, 2010b) och amplifierades med hjälp av 30 PCR-cykler (Applied Biosystems GenAmp® PCR System 9700) och kitet ESX 16 (Promega PowerPlex® ESX 16) (Biologienheten, 2011b). Proven kördes sedan genom kapillärelektrofores (Applied Biosystems ABI3130xl) för att separera PCR-produkterna. Vidare detekterades PCR-produkterna med hjälp av argonlaser och CCD-kamera. Data sammanställdes och typbestämningen skedde sedan i GeneMapperID v.3.2.1 (Applied Biosystems) (Biologienheten, 2011c).

Efter typbestämningen granskades elektroferogrammen och vi beslutade att amplifiera proven en gång till med Semi-LCN teknik (31 PCR-cykler, kitet SGM Mod) (Biologienheten, 2011a). Semi-LCN är en teknik som kan användas när ett provresultat från standardanalys inte är tillfredställande nog, det vill säga när det inte går att göra ett säkert uttalande på grund av för få eller för låga alleltoppar.

5. Resultat och diskussion

5.1 Framtagning av provtagningsprotokoll

5.1.1 Förstudier

En större litteratursökning gjordes för att hitta eventuella tidigare protokoll för kontaminationsövervakning i andra laboratorium, som kunde fungera som förebild och referens. Tyvärr påträffades inga sådana publicerade protokoll, vilket gjorde att vi istället valde att personligen kontakta flera olika forensiska laboratorier runt om i Europa.

På grund av sekretess och en vilja att inte sprida eventuellt känslig information, blev svaren mindre utförliga än vad vi hade hoppats på. Det visade sig i alla fall att inte många länder (av de som kontaktades) hade regelbundna, bestämda protokoll för denna typ av övervakning men att flera gjort enstaka, sporadiska kontroller.

Hollands motsvarighet till SKL (Nederlands Forensisch Instituut, NFI) hade vid tiden för detta projekt regelbundna kontroller en gång i månaden där de topsade ett flertal ytor. Vilka ytor som provtogs varierade, men de topsade alltid ett arbetsbord. Arean som topsades var inte fast bestämd⁵. Finlands motsvarighet till SKL (Keskusrikospoliisi, rikostekninen laboratorio, RTL) gjorde endast sporadiska kontroller där de topsade ytor på 50 x 50 cm⁶.

⁵ Muntlig kommunikation med Ankie van Gorp, NFI

⁶ Muntlig kommunikation med Auli Bengs, RTL

Norges motsvarighet till SKL:s biologienhet (Rettsmedisinskt Institutt, RMI) hade ingen kontaminationsövervakning⁷.

Anna Johansson gjorde 2008 ett projektarbete där ett antal ytor i laboratorielokaler på SKL enkeltopsades (10 x 10 cm), för att undersöka förekomsten av bakgrunds-DNA (Johansson, 2008).

SKL gjorde 2009-2010 en kontaminationsstudie i laboratorielokalerna för spårsökning och spårsäkring (Jansén, 2010). Till den studien enkeltopsade man arbetsbänkar efter utförd spårsäkring, bänkpapper, samt ärendeförpackningar och mappar. Man minitejpade också ett antal laboratorierockar som hade burits av laboratoriepersonal under en bestämd tid (Jansén, 2010).

2009 och 2010 gjordes också två kontaminationsstudier i andra laboratorielokaler på SKL (labben för standardanalysextraktion, DNA-fritt respektive FTA). I dessa studier topsades golv, arbetsbänkar, pärmar, frysar, stolar med mera. Arean på de olika ytorna var varierande, men bestämda (Lundin, 2009; Lundin, 2010).

SKL hade, vid tiden för detta projekt, kontinuerliga provtagningar för kontaminationsövervakning i laboratorielokalerna för spårsökning och spårsäkring av material med misstänkt mycket låg DNA-koncentration (Low Copy Number, LCN). Dessutom gjordes kontinuerliga provtagningar för kontaminationsövervakning i analyslabben för Semi-LCN och LCN-extraktion samt i labben för extraktion av standardanalyserade prov. För spårsöknings- och spårsäkringslabbet för LCN användes ett fastställt protokoll där de fyra gånger om året topsade fem ytor á 10 x 10 cm. Tre av de ytor som provtogs var fasta; ett avlastningsbord, ett uppknappingsbord samt en skrivarpulpet. De två kvarvarande ytorna var slumpmässigt valda⁸. Analyslabben för Semi-LCN och LCN-extraktion provtog två gånger per år, strax innan en storstädning. Semi-LCN topsade fem ytor, medan LCN-extraktion topsade tio. Extraktionslabbet för standardanalys topsade endast en gång per år, strax innan en storstädning. Arean på ytorna som topsades på analyslabben och standardanalysextraktion varierade beroende på ansvarig laborant⁹.

5.1.2 Definiering av provtagningsprotokoll

Efter diskussioner kring ovanstående fakta om provtagningar på SKL och andra motsvarande laboratorier, samt ytterligare litteraturstudier, beslutade vi att använda så kallad dubbel-topsning till alla fasta ytor/föremål. Dubbeltopsning innebär att ytan först topsas med en bomullstopps, fuktad med koksaltlösning (NaCl-lösning) och sedan med en torr tops. Detta gör man för att eventuella celler först ska blötas upp och på så sätt lossna från underlaget, för att sedan kunna tas upp av den torra topsen (Pang, 2007; Sweet, 1997).

Arean på provtagningsytor i detta projekt beslutade vi tills vidare skulle vara 1 dm², på ytor med större areor än detta. För ytor/föremål med mindre area än 1 dm², topsas hela ytan. Anledningen till att 1 dm² valdes som lämplig provtagningsarea var delvis för att det var en relativt lättuppskattad area, vilket var viktigt eftersom det skulle vara opraktiskt med någon form av mall för provtagningsytan. 1 dm² var också tillräckligt liten för att man som laborant lätt kunde topsa hela ytan noga, vilket bidrog till att provtagningarna blev mer oberoende av laboranten som topsar, och därmed mer jämförbara. Till sist ansåg vi att 1 dm² var en lämplig

⁷ Muntlig kommunikation med Oskar Hansson, RMI

⁸ Muntlig kommunikation med Kristina Lompar, laborant, SKL.

⁹ Muntlig kommunikation med Charlotte Dufva, molekylärbiolog på SKL.

area med tanke på dubbeltopsningen; hela arean skulle kunna topsas med den första fuktade topsen, utan att området där man började skulle hinna torka innan man hann topsa med den andra torra topsen.

Vi bestämde att ett provtagningsprotokoll borde innehålla ett visst antal fasta ytor/föremål som ska topsas vid varje provtagningsstillfälle, samt ett visst antal valbara, kompletterande ytor/föremål.

Vilka ytor som skulle provtas bestämdes genom att det dagliga arbetet i ett laboratorium följdes under tre dagar. Under denna tid observerades personalens rörelser och hantering av material och ytor i laboratoriet. Iakttagelserna sammanställdes sedan och lades fram för en större grupp medarbetare vid Biologienheten.

Vid diskussionerna som följde kom frågan upp om vilka ytor som räknades som smutsiga respektive rena. Det visade sig att åsikterna var delade om vissa ytor/föremål, men att alla oftast var överens om var man skulle ha handskar, när man skulle byta och var handskar inte behövdes. De ytor/föremål där åsikterna gick isär kommer i fortsättningen kallas ”gråzons-ytor”. Vi bestämde efter denna diskussion att den provtagning som planerats för att utvärdera det standardiserade provtagningsprotokollet samt klassificeringsmodellen skulle utökas, så att denna första provtagning blev större än det standardiserade protokollet. Totalt skulle 38 prover (eller två helt fyllda extraktionsbatcher) tas och analyseras. Utökningen gjordes för att kunna urskilja vilka ytor/föremål som var aktuella som ”fasta” i fortsatt provtagning, och vilka som kunde ses som valbara. Vi beslutade också att resultaten från denna utökade provtagning skulle utgöra grunden för besluten om hur många, och hur ofta, prov ska tas i det standardiserade provtagningsprotokollet.

I ett tidigare kontaminationsprojekt på SKL (Jansén, 2010) hängdes torra tops upp i lampor i laboratorielokalerna, för att fånga upp eventuella DNA- bärande partiklar i luften. Då påträffades inget DNA, men till detta projekt togs frågan om ”flygande” DNA-partiklar upp igen. Vi beslutade att hänga upp minitejper i lamporna istället för torra tops, med tanken att DNA-partiklarna borde fastna bättre på en klistrig yta. Minitejper består av en ca 1-2 cm² stor adhesiv yta som används för att tillvarata löst sittande biologiska spår (exempelvis där någon hållit eller där hud varit i nötande kontakt) på i första hand textilier¹⁰. Eftersom ingen liknande studie kunde hittas, beslutades också att vi skulle göra två försök, ett där minitejperna satt uppe i 24 timmar och ett där de satt uppe i sju dygn. Varje försök skulle innehålla fyra minitejper uppsatta på olika ställen, och/eller åt olika håll i laboratorielokalen.

5.1.3 Utförande av föreslaget provtagningsprotokoll

För att testa provtagningsprotokollet och besvara frågorna som kom upp under framtagandet, gjordes en provtagning utefter de kriterier som satts upp. Provtagningen tjänade också syftet att få användbar data till utprovningen av klassificeringsmodellen.

Se ”Material och metoder” för beskrivning av utförandet.

5.1.4 Utvärdering av provtagningsprotokoll

Den utökade provtagningen gjordes enligt preliminärt fastställd definition. Själva provtagningen fortlöpte utan problem och efter första analysen kunde vi konstatera att

¹⁰ Personlig kommunikation med Ricky Ansell, Verksamhetsexpert, Forensisk Generalist, SKL.

förväntade resultat erhöles i de flesta fall, se Provtagningsresultat för vidare detaljerad information.

Under provtagningen kom det upp att prov som tas i laboratorielokalerna för spårsökning och spårsäkring vid grova brottsutredningar inte bara analyseras med standardanalys. Det händer nämligen ganska ofta att spår från brottsutredningar inte ger tillfredställande resultat (det vill säga för få, eller för låga alleltoppar). Om spåret då anses som betydande, skickas proven på semi-LCN (Kit SGM Mod, 31 PCR-cykler). Materialet har då alltså tagits omhand i ett vanligt laboratorium, men analyserats med LCN-teknik. Detta gör att eventuella kontaminationer i ett laboratorium som inte är synliga med standardteknik, helt plötsligt kan bli ett problem. På grund av detta bestämde vi oss för att köra proverna genom semi-LCN för att se hur ett ökat cykeltal, i kombination med ett annat kit skulle påverka resultaten.

Semi-LCN detekterade mycket mer DNA än standardanalys gjorde (se Provtagningsresultat). Därför kommer man att i det standardiserade provtagningsprotokollet analysera proverna både med det nya ESX 16-kitet och med det gamla semi-LCN kitet (SGM Mod). Anledningen till detta är att man då får in ytterligare ett perspektiv i kontaminationsutredningen. Kontaminationer som syns med standardanalys måste ju ses som mer allvarliga än de som bara syns med semi-LCN. Särskilt i början av ett projekt som syftar till att minska kontaminationsriskerna på SKL, tror jag personligen att detta perspektiv kan ge en prioriteringslista som kan vara viktig, eftersom det kan vara svårt att ändra och förbättra allt på samma gång.

5.1.5 Det färdiga provtagningsprotokollet

Besluten att använda dubbeltoppsning och 1 dm² som standardyta behöles, eftersom resultaten från testprovtagningen visade att DNA kunde hittas, och att en gradering var möjlig (det vill säga, amplifieringen blev inte mättad). 1 dm² var alltså varken en för liten eller för stor yta.

Provtagning kommer tills vidare ske med en frekvens av en gång i månaden, med 15 prov per gång, varav 10 prov kommer att vara förutbestämda.

När de tio fasta proverna, det vill säga de ytor/föremål som i fortsatt provtagning ska topsas varje gång, skulle fastställas beslutades det att de rena ytorna där man i testprovtagningen hittade DNA var mest intressanta, därefter gråzonstorna. Ett urval gjordes bland dessa ytor och följande ytor/föremål blev fastställda som fasta:

En blyertspenna (används för att märka ut osynliga spår, se nedan), en hylla, ett arbetsbord, en kant på ett arbetsbord, en panel för höjjustering av arbetsbord, ett kanisterhandtag, ovanpå en lådhurts, en kylskåpshylla, ett kylskåpshandtag, samt ett leukomalakitgröntreagens-ställ (reagens för blodförprovning).

Vidare skulle vissa ytor/föremål klassas som "valbara", det vill säga ytor som väljs från en lista och som inte behöver topsas vid varje provtagningstillfälle. De valbara ytorna är uppdelade i smutsiga och "icke-smutsiga ytor" (det vill säga rena- och gråzonstorna), där alla icke-smutsiga ytor ska topsas minst en gång i halvåret. Vid varje provtagningstillfälle ska fem valbara ytor provtas, varav minst en smutsig. De valbara icke-smutsiga ytorna/föremålen blev undersidan på en tom eller nästan tom spritflaska, stället för engångshandsklådor, en märkpenna, en engångshandsklåda, ett kanisterlock, en kanisterbotten, runt lampan på crimescopet, papper som sitter på pappersrullen (och som varit exponerad för luft under minst en natt), samt ett handtag på en låda. Då och då borde man också sätta upp en minitejp i en lampa och låta den sitta i 24 timmar (räknas till de "icke-smutsiga"). De valbara smutsiga

ytorna blev en pulpet, en bläckpenna, en datamus, ett databord, samt en tejphållare. Att vi ansåg att man även skulle provta minst en smutsig yta varje gång var för att ha möjligheten att se eventuella förändringar även där.

Det färdigställda protokollet kan ses i Appendix 3.

5.2 Framtagning av klassificeringsmodell

För att utvärdera resultaten från det framtagna provtagningsprotokollet behövdes det en klassificeringsmodell. Det stod snabbt klart att prov från en kontaminationsövervakning inte kunde utvärderas på samma sätt som vanliga ärenderelaterade prov/spår, eftersom utgångspunkten i det senare fallet är att få resultat hållbara för ett utlåtande om vem DNA:t kommer/inte kommer ifrån. Ur ett kontaminationsperspektiv kan ett resultat som inte skulle klassas som hållbart i en ärenderelaterad process ändå ge viktig information, eftersom utgångspunkten är förekomsten av DNA som sådant.

Genom diskussioner kom vi fram till att det främst var tre parametrar som spelade in i hur allvarlig förekomst av DNA var. Dessa var (i) antal detekterbara alleler i ett prov, (ii) antal markörer med detekterbara alleler, samt (iii) topphöjden på de detekterbara allelerna i elektroferogrammet (figur 1B). För att få med alla dessa tre parametrar behövdes någon typ av tredimensionell konstruktion, men för att lätt kunna utvärdera resultatet efterfrågades det en tvådimensionell modell. När detta stod klart insåg vi att för att få en bra och matematiskt korrekt modell behövdes en kompetens som vi inte hade. Därför kontaktades SKL:s statistiker, Anders Nordgaard.

För att modellen inte skulle bli alltför komplicerad bestämde vi att varje parameter skulle ge en poäng mellan 1 och 5. Dessa poäng skulle fås genom att varje parameter på något sätt sammanställdes och sedan placerades in i ett intervall. För varje parameter skulle det finnas fem intervall, där det första intervallet gav 1 poäng, det andra 2 poäng, och så vidare...

Det gjordes flera förslag på parametersammanställande matriser och intervall, alla med en grund i traditionell riskhantering¹¹. Varje parameter hade olika förutsättningar och intervallen gjordes därför oberoende av varandra.

5.2.1 Första parametern; antal alleler

Första intervallet för antal alleler fastställdes preliminärt till 1-3 alleler, eftersom det i en negativkontroll får vara upp till tre alleler med viss rfu (se nedan), utan att kontrollen anses kontaminerad. För denna parameter ansågs det sedan som lämpligt att ha lika stora intervall hela vägen, varför andra intervallet blev 4-6 alleler, tredje intervallet 7-9 alleler och fjärde intervallet 10-12 alleler. Det sista (femte) intervallet blev "fler än 12" (13-), eftersom det teoretiskt sett kan finnas obegränsat med alleler i ett prov.

5.2.2 Andra parametern; antal markörer

För parametern "antal markörer", beslutade vi preliminärt att intervallen skulle följa "antal alleler". Som första intervall fick vi då 1-3 markörer, eftersom 3 alleler (max i första intervallet för "antal alleler") som mest kan finnas i tre olika markörer. Som sista (femte) intervall för "antal markörer" blev 13-16 markörer, eftersom det med nuvarande kit inte finns mer än 16 markörer.

¹¹ Exempel på riskhanteringsmatriser finns bland annat på <http://www.jiscinfonet.ac.uk/InfoKits/risk-management/numeric-scales> 2011-04-20

5.2.3 Tredje parametern; topphöjden

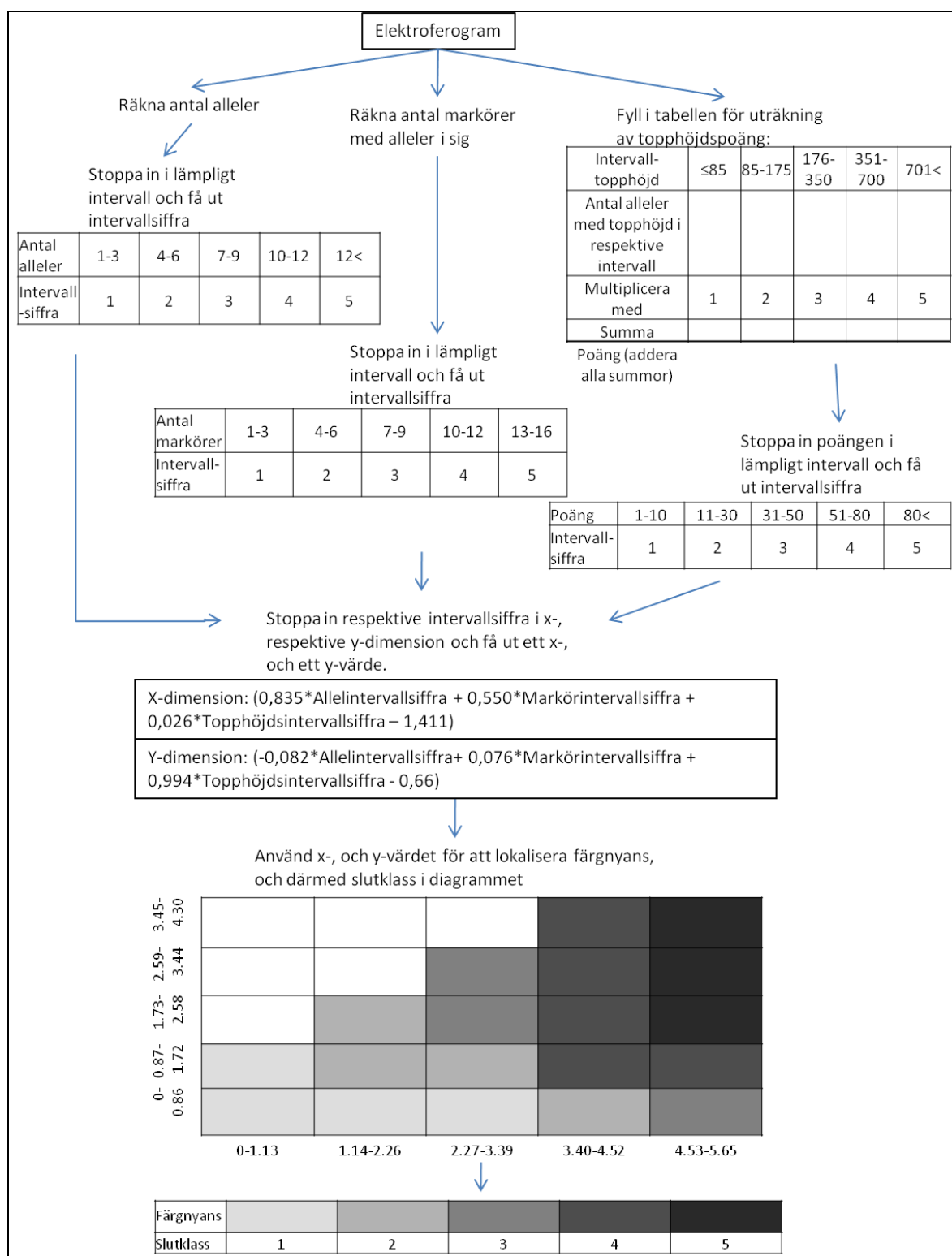
Topphöjden på de detekterbara allelerna var svårast att sammanställa på ett sätt som gav en rättvis bild av kurvan. Intervallerna som preliminärt fastställdes hade sin grund i hantering av negativkontroller, samt i forensisk utvärdering av brottsrelaterade spår. Det första intervallet beslutade vi skulle vara ”från detekterbart till och med 85 rfu” (<85). Detta grundade sig i att en negativkontroll anses ren så länge den inte har fler än tre alleltoppar *och* att ingen topp har ett rfu högre än 85. Det andra intervallet beslutade vi skulle gå upp till och med 175 rfu, eftersom detta är gränsen för att en heterozygot alleltopp (alltså när en person har två olika alleler i en markör) ska bli godkänd av en forensiker. Det tredje intervallet gick upp till 350 rfu, gränsen för att en homozygot alleltopp (en person har två likadana alleler i en markör) ska bli godkänd av en forensiker. För det fjärde intervallet bestämde vi att trenden att dubbla föregående intervalls max, skulle få fortsätta. Därför blev det fjärde intervallet 351 rfu till och med 700 rfu. Sista (femte) intervallet fick bli över 700 rfu ($700<$), eftersom även topphöjden teoretiskt sett kan vara hur hög som helst.

Olika matriser för bedömningen av topphöjd gjordes, men så småningom bestämde vi oss preliminärt för en matris där antalet alleler med en topphöjd inom varje intervall skulle tas i beräkning och en topphöjdspoäng skulle ges till varje kurva. Topphöjdspoängen skulle sedan i sin tur sättas i ett av fem intervall. Dessa intervall togs fram genom diskussioner, efter det att topphöjdspoängen för ett visst antal exempelkurvor räknats ut (se nedan). Matrisen/tabellen för uträkning av topphöjdspoäng, samt intervallen för dessa finns att hitta i figur 5.

Intervallen och matriserna testades genom att exempelkurvor analyserades dels manuellt av två handläggare, och dels av matriserna. Analyserna jämfördes och skillnader diskuterades innan intervall och matriser preliminärt fastställdes.

5.2.4 Slutmodell

Efter flera längre diskussioner och med hjälp av analyserna av exempelkurvorna gjorde Anders Nordgard (statistiker vid SKL) en preliminär slutmodell (även denna med traditionell riskhantering som mall) där de parametersammanställande matriserna och intervallen omräknades från tre, till två dimensioner (x och y) genom så kallad faktoranalys. Dimensionerna användes sedan för att få ut ett värde mellan 1 och 5 (representerade av fem olika färgnyanser) som beskriver provets/elektroferogramets slutklass, det vill säga graden av kontamination. Varje stigande siffra tyder på en ökad nivå av bakgrunds-DNA/kontamination och därmed en större kontaminationsrisk, men beroende på om ytan/föremålet som testats tidigare klassats som smutsig eller ren, är åtgärderna olika. Vilka resultat som kräver åtgärder och vilka åtgärder som måste göras, måste bedömas från prov till prov. Hela flödet från elektroferogrammet till den slutliga klassen förklaras ingående i figur 5.



Figur 5. Flödesschema för hur ett elektroferogram utvärderas ur kontaminationssynpunkt. Antal alleler, antal markörer och topphöjd på alleltopparna är de tre parametrar som tas från elektroferogrammet. Parametrarna sammanställs genom flera steg och leder så småningom till ett slutvärde mellan 1 och 5 (representerade av fem olika färgnyanser). Detta slutvärde visar graden av kontamination. Observera! Vita fält i diagrammet för slutklassificering är fält med omöjliga parameterkombinationer. Dessa tillhör alltså ej modellen.

5.2.5 Utvärdering av klassificeringsmodellen

För att bestämma om klassificeringsmodellen gav resultat som överensstämde med manuell utvärdering av elektroferogram, utvärderades såväl exempelkurvor som vissa resultatkurvor

från detta projekts testprovtagning av både den framtagna modellen och av två forensiker (data visas ej). Utvärderingsresultaten jämfördes sedan och skillnader diskuterades. Man såg att resultaten korrelerade relativt bra såväl mellan de manuella utvärderingarna som med modellen, men att ett separat tillägg borde göras till slutklassificeringen. Detta tillägg berör det faktum att en kontamination bör anses allvarigare ifall den bedöms härstamma från en enda person (genotyp). En hantering av detta kan vara att om en kurva klassas in i slutklass 3 av klassificeringsmodellen, men man utifrån kurvan bedömer att DNA:t kommer från en person, så ska den istället uppgraderas till en 4:a. Ett alternativ sätt att hantera frågan då DNA:t bedöms komma från en person är att inte ha med det i klassificeringsmodellen utan hantera det parallellt. Det alternativet bedöms dock vara mindre bra. Med detta tillägg fastställdes klassificeringsmodellen i sin ursprungliga form.

5.3 Provtagningsresultat

Resultaten av provtagningen sammanställdes i tabellform och kan ses i Appendix 2.

5.3.1 ESX 16

När proverna analyserades med det nya standardkitet ESX 16, 30 cykler, detekterades DNA i 18 av 46 prover. Dessa 18 DNA-spår var fördelade så att åtta av tio ytor klassade som smutsiga hade DNA-spår. Ytorna som hade klassats som smutsiga, men inte visade på något DNA var Databordet och Förpackningskniven. Vidare hade fem av åtta gråzonstyror spår av DNA. Undantagen var Handtag – kyl, Reagensställ – ränna samt Märkpenna. Om man tittade på ytor klassade som rena hade fyra av 20 ytor spår av DNA. Dessa var Blyertspenna, Kanister – lock, Hylla samt Kant – arbetsbord. Av de åtta minitejperna tänkte att fånga upp ”flygande” DNA-partiklar, hade endast en detekterbart spår av DNA. Denna tejp hade suttit uppe i 24 timmar.

Överlag såg det ut som att de ”smutsiga” ytorna hade mer DNA på sig än gråzonstyrorna och de ”rena” ytorna, men med vissa undantag. Blyertspennan hade till exempel, trots att den klassades i slutklass 1, högre poäng i topphöjds-poängssystemet än fem av de gråzonstyror och smutsiga ytor som hade detekterbart DNA, och reagensstället hade högre slutklass än sex av åtta smutsiga ytor med detekterbart DNA, trots att det klassats som gråzon.

Nästan alla av de 18 proverna där DNA detekterades hade så låga topphöjder och/eller så få detekterade alleler att de, om de varit prov från brottsärenden, hade avskrivits som blanka och inte påverkat ärendet. Topparna hade antingen klassats som drop-in´s eller artefakter, det vill säga enstaka alleler som dykt upp sporadiskt eller genom kontamination, vilka inte går att härleda till person. I fyra av fallen hade de, om de varit negativkontroller, till och med klassats som rena. Det är egentligen bara tre prover som ens hade granskats av en forensiker; reagensstället, tejphållaren och tangentbordet. Proverna från reagensstället och tejphållaren skulle eventuellt kunna härledas till en person (DNA-profil), medan provet från tangentbordet snarare hade klassats som en blandbild med DNA från två eller fler personer, eftersom det fanns fler än två alleler i varje markör. Eftersom både tejphållaren och tangentbordet är klassade som smutsiga ytor, är detta resultat föga förvånande. Värt att notera är dock att inte mer DNA detekterades på fler av de så kallade smutsiga ytorna. Att just tejphållaren och tangentbordet uppvisade så tydliga tecken på kontamination beror antagligen på att de används väldigt ofta, tillsammans med det faktum att båda ytorna är svåra att rengöra. Reagensstället var klassat som en gråzonstyr, så även om man hade hoppats att det inte skulle finnas så mycket DNA på det var resultatet inte så förvånande. Reagensstället är ett av de föremål i laboratoriet som ofta glöms bort vid rengöring, vilket sannolikt är anledningen till

att så mycket DNA kunde detekteras. Påvisandet av DNA på reagensstället bör kunna vara en väckarklocka för framtiden.

5.3.2 Semi-LCN, första körningen

När proverna från testprovtagningen istället kördes med SGM Mod, 31 cykler, detekterades i första körningen DNA i 37 av 46 prover. Här hade alla smutsiga och gråzonsytor spår av DNA tillsammans med 14 av de 20 ”rena” ytor. De nio ytor som fortfarande inte hade något detekterbart DNA var Kanister – botten, Utbrett papper, Pappersrulle, ett av lådhandtagen, två av områdena på arbetsborden, samt tre av de åtta minitejperna. Alla minitejper som suttit uppe i sju dygn hade spår av DNA, medan endast en av tejperna som suttit uppe i 24 timmar hade DNA-spår. Anmärkningsvärt var dock att 24-timmars-tejpen hade högre poäng i topphöjds-poängssystemet än de fyra sju-dygns-tejperna. I slutklassningen blev 24-timmars-tejpen tillsammans med en av sju-dygns-tejperna klassad som en 2:a, medan övriga sju-dygns-tejperna klassades som 1:or. Om detta beror på något särskilt i ärendehantering under provtagningstiden går tyvärr inte att reda ut i efterhand.

Även i denna körning såg det överlag ut som att de smutsiga ytor hade mest DNA, följt av gråzonsytorna. De ”rena” ytor hade i de flesta fallen minst DNA. De tydligaste undantagen från detta påstående var de ”rena” ytor blyertspenna, stället för handsklådor, samt en av hyllorna. Dessa klassades, med denna mer känsliga analys, in i slutklass 5.

Med LCN-tekniken fick fler prover tillräckligt höga topphöjder för att kunna granskas av forensiker. Det blev dock inte många prov som fick ”tillfredsställande resultat”, i den bemärkelsen att de skulle kunna resultera i någon form av användbart resultat i ett utlåtande. De flesta skulle klassats som blandbilder från åtminstone två personer. Undantagen var ett av hyllproven samt provet från handsklådestället, vilka skulle kunna vara härledbara till person (DNA-profil). Några sökningar i SKL:s eliminationsdatabas har inte genomförts inom ramen för projektet.

5.3.3 Semi-LCN, andra körningen

I brottsutredningar, vid analys av spår med semi-LCN används alltid dubbelanalys, så kallad konsensusanalys, av det skälet att då det rör sig om dessa extrema detektionsnivåer så spelar slumpen in i resultatet genom stokastisk variation vid PCR-amplifieringen. Alleler måste således detekteras vid båda analyserna för att inte ses som slumpmässiga drop-ins. Vi bestämde att vi inte skulle göra en konsensusanalys, utan behandla resultaten separat. Dock gjordes ändå en dubbelanalys av proverna från testprovtagningen, eftersom det gav oss ytterligare data att arbeta med.

Även vid denna körning med SGM Mod detekterades DNA i 37 av 46 prover, men de två körningarna överensstämmer inte helt med varandra. Fyra prover som inte hade detekterbart DNA i första körningen hade det i den andra. Dessa var ett av arbetsbordsproven, ett av handtagen på en låda, på pappersrullen samt på botten av kanistern. Givetvis var det också tvärtom, det var fyra prover som i första körningen hade detekterbart DNA, men som inte visade något resultat i den andra. Dessa var ett annat arbetsbordsprov, locket på kanistern, märkpennan samt en av minitejperna som suttit uppe i sju dygn. I dessa åtta prov, där DNA detekterades i den ena körningen men inte i den andra, var antalet alleler, markörer och topphöjd så pass låga att de klassades till slutklass 1.

Det fanns även exempel på prov där DNA detekterades i båda körningarna, men där mängden DNA som hittades var mycket olika. Detta gällde främst stället för engångshandskar (slutklass

5 i första körningen, slutklass 2 i andra körningen), Hyllan i kylan (slutklass 5 i första körningen, slutklass 1 i andra körningen), Handtag på kanister (slutklass 4 i första körningen, slutklass 1 i andra körningen) samt reagensstället (slutklass 5 i första körningen, slutklass 1 i andra körningen). Variationen tyder på att det handlar om små mängder DNA.

5.3.4 Reflektion över resultaten

Sammanfattningsvis kunde konstateras att fler prover fick detekterbart DNA när SGM Mod (31 cykler) användes istället för ESX 16 (30 cykler). Detta var inte särskilt förvånande eftersom en extra cykel innebär en dubblering av antalet DNA-strängar i ett prov. Man kan alltså inte förvänta sig annat än att man för varje extra PCR-cykel kommer detektera mer och mer DNA, så länge det finns något alls att amplifiera.

Överlag verkar det som att bilden av de kategorier som framkom vid diskussion med personalen, ”rent, smutsigt och gråzon” stämde väl överens med resultaten från provtagningen. De smutsiga ytorna hade mest DNA, medan de rena ytorna hade minst. Detta visar att personalen som vistas i lokalerna för spårsökning och spårsäkring i stort vet hur kontaminationsläget ser ut i laboratoriet. Resultatet visar också att de uppgjorda rutinerna för hanteringen av olika ytor är relevanta. Båda dessa slutsatser var givetvis tillfredställande.

De stora undantagen från dessa slutsatser var blyertspennan och en av hyllorna, som vi hade klassat som rena, men där resultaten visar på höga mängder detekterbart DNA. Ur kontaminationssynpunkt var detta såklart mycket allvarliga fynd, särskilt gällande blyertspennan. Denna används nämligen för att på bevismaterial märka ut fläckar som sedan ska undersökas vidare. Pennan kommer alltså i direktkontakt med möjliga spår. Anledningen till att man hittade så mycket DNA på blyertspennan antas vara för att den är gjort i trä. Trä är ett levande material och binder således väldigt lätt upp ämnen som fett och proteiner. Fibrerna suger dessutom snabbt upp vätskor så som alkohol, vilket antagligen har gjort att avspritningen av pennan inte haft önskvärd effekt. Det ska dock påpekas att provtagningen gjordes på pennans träskaft, och inte på blyertsstiftet.

Vad gäller gråzonstytorna var det som väntat ganska blandade resultat. Vissa ytor var, om man ser till klassningen definitivt smutsiga (till exempel reagensstället och panelen för höjdjustering), medan andra var närmare rena (till exempel märkpennan). Hur dessa gråzoner ska klassas i framtiden måste dock diskuteras vidare, eftersom synen på gråzonerna varierar och gråzonerna i största allmänhet verkar vara riskytor.

5.4 Nya frågeställningar och förslag till åtgärder

Även om detta projekts huvudsyfte var att ta fram ett program för kontaminationsövervakning har jag under projektets gång stött på vissa frågeställningar kring det laborativa arbetet på Biologienheten, då främst i lokalerna för grova brottsutredningar. Dessa frågeställningar behöver hanteras för att minska kontaminationsrisken på labb.

Den första frågan som kommer upp ur kontaminationssynpunkt är om man verkligen ska ha ”smutsiga” ytor i de aktuella lokalerna. Personligen anser jag att smutsiga ytor inte är någonting man kan komma ifrån, om det fortfarande ska vara praktiskt för de anställda. Däremot anser jag att de smutsiga ytorna måste vara väldefinierade och, så långt det går, också distinkt skilda från de rena ytorna. Det betyder till exempel att inget föremål som klassas som smutsigt ska placeras på arbetsborden, som klassas som rena. Dessa smutsiga föremål ska istället ha egna ytor, alternativt tydligt markerade platser på vilka de placeras när

de används såväl som när de inte används. På dessa smutsiga ytor ska det vidare aldrig placeras någonting som klassas som rent.

Föregående frågeställning leder vidare till den kanske mest akuta frågeställningen; vad är en ren respektive smutsig yta och hur ska gråzonstorna klassas? För att ha så låg kontaminationsrisk som möjligt kan det inte finnas gråzoner, utan alla personer som vistas i laboratorielokalerna måste ha samma definition på vad som är rent och vad som är smutsigt. Vidare måste alla också vara överens om när man byter handskar, även när man vistas vid och hanterar ”rena” ytor.

Det skulle också eventuellt kunna bli aktuellt med mer väl definierade arbetsrutiner. Med det menas att man definierar vad, hur mycket, och i vilken ordning saker och ting tas fram inför en specifik uppgift. Detta skulle kunna leda till en minskad kontaminationsrisk, eftersom man minskar spring fram och tillbaka i labbet, risken att man glömmer något och risken att man samtidigt smutsar ner rena handskar eller ytor. Det sistnämnda kräver förstås att man definierar vad som är smutsiga respektive rena ytor, samt att man antingen först tar fram alla rena föremål och sedan de smutsiga, eller har bestämt i rutinen exakt när man byter handskar. Med en definierad arbetsrutin skulle man också kunna förhindra onödig åtgång av engångsmateriel som handskar, men detta skulle eventuellt vägas upp av att annat material, som till exempel oanvända plaströr istället skulle slängas i större utsträckning.

Att definiera alla arbetsrutiner i ett laboratorium kräver en stor arbetsinsats som sedan följs av en lång inlärningsperiod. Under inlärnigen finns en risk för att det blir mer rörigt än innan, vilket skulle höja kontaminationsrisken temporärt. Dessutom skulle arbetet sannolikt gå långsammare under den första tiden. Frågan som måste diskuteras är alltså om man ska anse att definierade arbetsrutiner, i linje med detta resonemang är värt allt besvär.

Det här projektet syftade till att göra ett förslag till program för kontaminationsövervakning för laboratorielokalerna för grova brottsutredningar. Både provtagningsprotokoll och klassificeringsmodell är dock något som lätt går att överföra på andra laboratorielokaler och både protokollet och modellen är flexibla på så vis att de relativt enkelt kan ändras efter behov. Om samma program användes i flera lokaler uppnås en standardisering som skulle kunna leda till bättre och snabbare åtgärder för att förhindra kontamination, eftersom man då kan jämföra rutiner och effekter i de olika labben och, så att säga, ta vara på godbitarna. Dessutom skulle användandet av samma, väl definierade program ta bort alla eventuella frågetecken kring hur en kontroll ska tolkas och hur förhållandet till andra kontroller ser ut.

6. Slutsatser

Det framtagna provtagningsprotokollet för kontaminationsövervakning fungerade enligt förhoppning och rutiner finns nu definierade.

Med få undantag såg kontaminationsläget ut som förväntat i laboratorielokalen där testprovtagningen utfördes. Undantagen har lett till diskussioner om eventuellt byte av vissa material och om förändrade arbetsrutiner.

Klassificeringsmodellen som togs fram korrelerade väl med den manuella utvärderingen som gjordes av provtagningsresultat, särskilt efter att tillägget om en högre slutklassning vid påvisning av en enda persons DNA (genotyp). Klassificeringsmodellen ger, i en relativ skala DNA-närvaron i laboriemiljön och därmed risken för kontamination, men eftersom

allvarlighetsgraden av kontaminationen även beror på vilken yta provet tagits från, kan man inte göra en åtgärdsstandardisering endast utifrån klassningen. Vilka resultat som kräver vilka åtgärder lämnas till ett framtida projekt att utreda.

Projektet i stort har lett till ökad medvetenhet, och öppnat för diskussioner kring kontaminationsrisker på lab.

7. Tack

Ricky Ansell, Mattias Thelander, Johanna Nilsson, Ann-Christin Andersson, Charlotte Dufva, Anders Nordgaard, Ronny Hedell, Eva-Lena Olsén, Kristina Lompar, Ankie van Gorp, Auli Bengs, Oskar Hansson, övriga medarbetare på SKL:s Biologienhet och alla andra som deltagit i detta projekt. Tack för hjälp och givande diskussioner, både runt fikabordet och i mötesrummen. Tack för ert engagemang och intresse, ert välkomnande och er hänsyn till den lilla studenten.

8. Referenser

- Albinsson L., Hedman J., Ansell R. "SKL byter DNA-kit". *Kriminalteknik* 1 (2011): 4-5.
- Ansell R. "Tio år med DNA". SKL Rapport 2005:02.
- Biologienheten, SKL. "Metodbeskrivning för DNA-extraktion av blod- och sekretmaterial med chelex". Kvalitetsdokument B-M56, bilaga 2 (2010a).
- Biologienheten, SKL. "Metodbeskrivning för DNA-kvantifiering med realtids-PCR (Quantifiler™ Human-Kit)". Kvalitetsdokument B-M71, bilaga 1 (2010b).
- Biologienheten, SKL. "Städrutiner upppackningsrum Grova Brott (C-korridoren). Verksamhetshandbok". Kapitel 4, bilaga 5 (2010c).
- Biologienheten, SKL. "Metodbeskrivning för Low Copy Number (LCN) amplifiering och typbestämning av STR-markörer och Amelogenin". Kvalitetsdokument B-M72, bilaga 4 (2011a).
- Biologienheten, SKL. "Metodbeskrivning för amplifiering med PowerPlex® ESX 16". Kvalitetsdokument B-M72, bilaga 8 (2011b).
- Biologienheten, SKL. "Metodbeskrivning för typbestämning av STR-markörer och Amelogenin på ABI PRISM® 3130xl Genetic Analyzer, ESX16". Kvalitetsdokument B-M72, bilaga 9 (2011c).
- Gill P., Rowlands D., Tully G., Bastisch I., Staples T., Scott P. "Manufacturer contamination of disposable plastic-ware and other reagents -An agreed position statement by ENFSI, SWGDAM and BSAG". *Forensic Science International: Genetics* 4, (2010): 269-270.
- Gill P. "Role of short tandem repeat DNA in forensic casework in the UK-past, present, and future perspectives". *Biotechniques* 32, (2002): 366-385.
- Jansén M., Forsslund S., Tapper H., Svensson K. "Kontaminationsprojekt AK_B_03". SKL Notat Biologienheten 2010:25.
- Johansson, A. "Förekomst av spermier och bakgrunds-DNA i forensisk laboratoriemiljö". Projektarbete i Forensisk vetenskap, Linköpings universitet (2008).
- Lundin L., Dufva C., Johansson M. "Undersökning för att se förekomsten av DNA på extraktions-, DNA-fria och FTA-laboratoriet". SKL Notat Biologienheten 2009:17.
- Lundin L., Svensson K., Dufva C. "Undersökning avseende förekomst av DNA på extraktions-, DNA-fria och FTA-laboratoriet". SKL Notat Biologienheten 2010:02.
- Neuhuber F., Dunkelmann B., Höckner G., Kiesslich J., Klausriegler E., Radacher M. "Female criminals -It's not always the offender!". *Forensic Science International: Genetics Supplement Series* 2, (2009): 145-146.

Pang B.C.M., Cheung B.K.K. "Double swab technique for collecting touched evidence". *Legal Medicine* 9, (2007): 181-184.

Rutty G. N., Hopwood A., Tucker V. "The effectiveness of protective clothing in the reduction of potential DNA contamination of the scene of crime". *International Journal of Legal Medicine* 117, (2003): 170–174.

Sempler K. "En cell binder brottslingen". *Kemivärlden Biotech med Kemisk Tidskrift* 4, (2002).

Sweet D., Lorente M., Lorente J.A., Valenzuela A., Villanueva E. "An improved method to recover saliva from human skin: the double swab technique". *Journal of Forensic Sciences* 42, (1997): 320-322.

van Oorschot R. A.H, K. N Ballantyne, R. J Mitchell. "Forensic trace DNA: a review". *Investigative Genetics* 1, (2010): 1–17.

Widén C. "DNA Eliminationsdatabas". *Kriminalteknik* 2, (2011): 8-9.

10. Appendix 1

Tabell 1. Sammanställande tabell för genomförd provtagning i laboratorielokalen 3313, rum för grova brottsutredningar. Tabellen visar *Provnummer*, *Yta/föremål* (vad som provtogs), *Område/area* av området som provtogs, vilken *Kategori* området/föremålet tillhörde (det vill säga ren, gråzon eller smutsig) samt *Kompletterande beskrivning*

Provnummer	Yta/Föremål	Område/area	Kategori*	Kompletterande beskrivning
PPD1	Arbetsbord A	del av, 1dm ²	Ren	slumpmässigt vald plats
PPD2	Arbetsbord B	del av, 1dm ²	Ren	slumpmässigt vald plats
PPD3	Arbetsbord C	del av, 1dm ²	Ren	slumpmässigt vald plats
PPD4	Arbetsbord D	del av, 1dm ²	Ren	slumpmässigt vald plats
PPD5	Arbetsbord E	del av, 1dm ²	Ren	slumpmässigt vald plats
PPD6	Arbetsbord F	del av, 1dm ²	Ren	slumpmässigt vald plats
PPD7	Kant - arbetsbord	del av, 1dm ²	Ren	slumpmässigt vald plats
PPD8	Panel för höjdjustering- arbetsbord	hela	Gråzon	
PPD9	Hyllor för material- A	del av, 1dm ²	Ren	slumpmässigt vald plats
PPD10	Hyllor för material- B	del av, 1dm ²	Ren	slumpmässigt vald plats
PPD11	Ovanpå lådhurts (avlastningsyta)	del av, 1dm ²	Gråzon	slumpmässigt vald plats
PPD12	Handtag på låda för tops	hela	Ren	
PPD13	Handtag på låda för ärmskydd	hela	Ren	
PPD14	Bänkpappersrulle - exponerat papper	del av, 1dm ²	Ren	slumpmässigt vald plats
PPD15	Bänkpapper- utbrett	del av, 1dm ²	Ren	slumpmässigt vald plats
PPD16	Ställ för handsklådor, ytan ut mot rummet	hela	Ren	Se figur 3B för bild
PPD17	Crimescope - kring lampans sista del	del av, ca 1dm ²	Ren	Se figur 3C för bild
PPD18	Handtag till kyl	hela	Gråzon	
PPD19	Hylla - kyl, övre hyllan	del av, 1dm ²	Gråzon	slumpmässigt vald plats
PPD20	Kanister för rör - handtag	hela	Ren	
PPD21	Kanister för rör - inuti botten	del av, 1dm ²	Ren	slumpmässigt vald plats
PPD22	Kanister för rör- insida lock	del av, 1dm ²	Ren	slumpmässigt vald plats
PPD23	Leukomalakitgröntreagen s-ställ, ränna för filterpapper, i och ovanpå	hela	Gråzon	
PPD24	Leukomalakitgröntreagen s-ställ, över- och undersida, ej i flaskhållare	del av, ca 1dm ²	Gråzon	
PPD25	Blyertspenna plockad direkt ur disskorg	hela	Ren	
PPD26	Märkpena utan kork	hela	Gråzon	

PPD27	Handsklåda - runt och i öppningen	del av	Ren	Nyligen tömd
PPD28	Tejphållare- handtaget	hela	Smutsig	
PPD29	Spritflaska, botten	hela	Gråzon	Nästan full
PPD30	Förpackningskniv, ej bladet	hela	Smutsig	
PPD31	Crimescope-glasögon, utsidan	del av, ca 1dm ²	Smutsig	
PPD32	Kamera, fram- och undersida. Ej zoomlinsen	del av, ca 1dm ²	Smutsig	
PPD33	Bläckpenna, ej spetsen	hela	Smutsig	
PPD34	Tangentbord	del av, ca 1dm ²	Smutsig	på och emellan tangenterna
PPD35	Datamus, ovansida och skrollhjul	hela	Smutsig	
PPD36	Databord	del av, 1dm ²	Smutsig	slumpmässigt vald plats
PPD37	Radio, halva ovansidan	del av, ca 1dm ²	Smutsig	slumpmässigt vald plats
PPD38	Pulpet, del av	del av, 1dm ²	Smutsig	slumpmässigt vald plats
PPD39	Minitejp, 24h	hela	-	Mitt över små arbetsbord. Pekande mot dragskåp
PPD40	Minitejp, 24h	hela	-	Mitt över små arbetsbord. Pekande mot etikettsskrivare
PPD41	Minitejp, 24h	hela	-	Över stora arbetsbord intill sladdränna. Pekande mot fönstren
PPD42	Minitejp, 24h	hela	-	Över stora arbetsbord intill sladdränna. Pekande mot korridoren
PPD43	Minitejp, 7 dygn	hela	-	Mitt över små arbetsbord. Pekande mot dragskåp
PPD44	Minitejp, 7 dygn	hela	-	Mitt över små arbetsbord. Pekande mot etikettsskrivare
PPD45	Minitejp, 7 dygn	hela	-	Över stora arbetsbord intill sladdränna. Pekande mot fönstren
PPD46	Minitejp, 7 dygn	hela	-	Över stora arbetsbord intill sladdränna. Pekande mot korridoren
* Beskriver om Ytan/föremålet klassas som en ren-, smutsig-, eller gråzon				

11. Appendix 2

Tabell 2. Resultat av provtagning. Tabellen visar *Provnummer*, en kort *beskrivning* av ytan/området som provtogs, *antal alleler*, *antal markörer* samt *poäng i topphöjds-poängsystemet* för respektive elektroferogram. Amplifiering skedde med hjälp av typbestämningskitet ESX 16 (15 STR-markörer samt Amelogenin), 30 PCR-cykler.

ESX 16 - 30 cykler					
Provnummer	Beskrivning*	Antal Alleler	Antal markörer	Poäng i topphöjds-poängsystem	Slutklass
PPD1	Arbetsbord	-	-	-	-
PPD2	Arbetsbord	-	-	-	-
PPD3	Arbetsbord	-	-	-	-
PPD4	Arbetsbord	-	-	-	-
PPD5	Arbetsbord	-	-	-	-
PPD6	Arbetsbord	-	-	-	-
PPD7	Kant- bord	1	1	1	1
PPD8	Panel- höjdjustering	1	1	1	1
PPD9	Hylla	2	2	4	1
PPD10	Hylla	-	-	-	-
PPD11	Ovanpå lådhurts	5	4	5	1
PPD12	Handtag	-	-	-	-
PPD13	Handtag	-	-	-	-
PPD14	Pappersrulle	-	-	-	-
PPD15	Papper	-	-	-	-
PPD16	Ställ	-	-	-	-
PPD17	Crimescope	-	-	-	-
PPD18	Kyl- handtag	-	-	-	-
PPD19	Kyl- hylla	6	5	9	1
PPD20	Kanister- handtag	-	-	-	-
PPD21	Kanister- botten	-	-	-	-
PPD22	Kanister- lock	1	1	2	1
PPD23	Reagensställ- ränna	-	-	-	-
PPD24	Reagensställ	10	7	15	4
PPD25	Blyertspenna	6	6	6	1
PPD26	Märkpenna	-	-	-	-
PPD27	Handsklåda	-	-	-	-
PPD28	Tejphållare	43	16	102	5
PPD29	Spritflaska	2	2	2	1
PPD30	Förpackningskniv	-	-	-	-
PPD31	Crimescope- glasögon	4	4	4	1
PPD32	Kamera	9	8	13	3
PPD33	Bläckpenna	7	6	10	1
PPD34	Tangentbord	60	16	130	5
PPD35	Datormus	2	2	3	1
PPD36	Databord	-	-	-	-
PPD37	Radio	7	7	11	3

PPD38	Pulpet	7	7	8	1
PPD39	Minitejp- 24h	-	-	-	-
PPD40	Minitejp- 24h	1	1	1	1
PPD41	Minitejp- 24h	-	-	-	-
PPD42	Minitejp- 24h	-	-	-	-
PPD43	Minitejp- 7dygn	-	-	-	-
PPD44	Minitejp- 7dygn	-	-	-	-
PPD45	Minitejp- 7dygn	-	-	-	-
PPD46	Minitejp- 7dygn	-	-	-	-

*** Kortare beskrivning av vart respektive prov har tagits. För mer information, se appendix 1.**

Tabell 3. Resultat av provtagning. Tabellen visar *Provnummer*, en kort *beskrivning* av ytan/området som provtogs, *antal alleler*, *antal markörer*, samt *poäng i topphöjds-poängsystemet* för respektive elektroferogram. Amplifiering skedde med hjälp av typbestämningskitet SGM Mod (10 STR-markörer samt Amelogenin), 31 PCR-cykler. Första (A) körningen

SGM Mod - 31 cykler_A					
Provnummer	Beskrivning*	Antal Alleler	Antal markörer	Poäng i topphöjds-poängsystem	Slutklass
PPD1	Arbetsbord	2	2	4	1
PPD2	Arbetsbord	1	1	2	1
PPD3	Arbetsbord	-	-	-	-
PPD4	Arbetsbord	1	1	2	1
PPD5	Arbetsbord	-	-	-	-
PPD6	Arbetsbord	1	1	2	1
PPD7	Kant- bord	9	6	17	2
PPD8	Panel- höjdjustering	16	9	45	4
PPD9	Hylla	18	11	40	5
PPD10	Hylla	5	5	10	1
PPD11	Ovanpå lådhurts	20	11	117	5
PPD12	Handtag - låda	-	-	-	-
PPD13	Handtag - låda	2	2	4	1
PPD14	Pappersrulle	-	-	-	-
PPD15	Papper	-	-	-	-
PPD16	Ställ - engångshandskar	16	11	37	5
PPD17	Crimescope	4	3	8	1
PPD18	Kyl- handtag	6	5	11	2
PPD19	Kyl- hylla	20	11	46	5
PPD20	Kanister- handtag	10	8	25	4
PPD21	Kanister- botten	-	-	-	-
PPD22	Kanister- lock	1	1	2	1
PPD23	Reagensställ- ränna	14	10	33	5
PPD24	Reagensställ	24	11	69	5
PPD25	Blyertspenna	18	10	44	5
PPD26	Märkpena	4	3	13	1
PPD27	Handsklåda	2	2	5	1
PPD28	Tejphållare	53	11	200	5
PPD29	Spritflaska	14	9	37	4
PPD30	Förpackningskniv	9	5	72	3
PPD31	Crimescope- glasögon	30	11	80	5
PPD32	Kamera	24	11	63	5
PPD33	Bläckpena	28	11	81	5
PPD34	Tangentbord	39	9	120	5

PPD35	Datormus	22	9	46	4
PPD36	Databord	16	9	46	4
PPD37	Radio	26	10	84	5
PPD38	Pulpet	28	10	71	5
PPD39	Minitejp- 24h	-	-	-	-
PPD40	Minitejp- 24h	6	5	17	2
PPD41	Minitejp- 24h	-	-	-	-
PPD42	Minitejp- 24h	-	-	-	-
PPD43	Minitejp- 7dygn	2	2	4	1
PPD44	Minitejp- 7dygn	1	1	2	1
PPD45	Minitejp- 7dygn	1	1	2	1
PPD46	Minitejp- 7dygn	4	4	12	2

*** Kortare beskrivning av vart respektive prov har tagits. För mer information, se appendix 1.**

Tabell 4. Resultat av provtagning. Tabellen visar *Provnummer*, en kort *beskrivning* av ytan/området som provtogs, *antal alleler*, *antal markörer*, *poäng i topphöjds-poängsystemet* för respektive elektroferogram, samt *antal konsensusalleler*. Amplifiering skedde med hjälp av typbestämningskitet SGM Mod (10 STR-markörer samt Amelogenin), 31 PCR-cykler. Andra (B) körningen

SGM Mod - 31 cykler_B					
Provnummer	Beskrivning*	Antal Alleler	Antal markörer	Poäng i topphöjds-poängsystem	Slutklass
PPD1	Arbetsbord	1	1	3	1
PPD2	Arbetsbord	1	1	2	1
PPD3	Arbetsbord	-	-	-	-
PPD4	Arbetsbord	5	4	12	2
PPD5	Arbetsbord	2	2	4	1
PPD6	Arbetsbord	-	-	-	-
PPD7	Kant- bord	9	7	20	2
PPD8	Panel- höjdjustering	21	11	51	5
PPD9	Hylla	23	11	67	5
PPD10	Hylla	2	2	4	1
PPD11	Ovanpå lådhurts	16	9	42	4
PPD12	Handtag - låda	3	2	7	1
PPD13	Handtag - låda	4	4	10	1
PPD14	Pappersrulle	1	1	3	1
PPD15	Papper	-	-	-	-
PPD16	Ställ - engångs- handskar	9	7	21	2
PPD17	Crimescope	3	2	6	1
PPD18	Kyl- handtag	7	6	13	2
PPD19	Kyl- hylla	4	4	4	1
PPD20	Kanister- handtag	2	2	3	1
PPD21	Kanister- botten	1	1	2	1
PPD22	Kanister- lock	-	-	-	-
PPD23	Reagensställ- ränna	2	2	3	1
PPD24	Reagensställ	35	11	84	5
PPD25	Blyertspenna	24	11	53	5
PPD26	Märkpenna	-	-	-	-
PPD27	Handsklåda	1	1	1	1
PPD28	Tejphållare	53	11	189	5
PPD29	Spritflaska	23	11	48	5

PPD30	Förpackningskniv	11	7	26	4
PPD31	Crimescope- glasögon	33	11	76	5
PPD32	Kamera	12	9	31	4
PPD33	Bläckpenna	34	11	89	5
PPD34	Tangentbord	50	11	151	5
PPD35	Datormus	10	8	14	4
PPD36	Databord	17	9	41	4
PPD37	Radio	33	11	92	5
PPD38	Pulpet	24	11	62	5
PPD39	Minitejp- 24h	-	-	-	-
PPD40	Minitejp- 24h	5	4	15	2
PPD41	Minitejp- 24h	-	-	-	-
PPD42	Minitejp- 24h	-	-	-	-
PPD43	Minitejp- 7dygn	-	-	-	-
PPD44	Minitejp- 7dygn	1	1	2	1
PPD45	Minitejp- 7dygn	2	2	8	1
PPD46	Minitejp- 7dygn	2	2	6	1

*** Kortare beskrivning av vart respektive prov har tagits. För mer information, se appendix 1.**

11. Appendix 3

Provtagningsprotokoll – kontaminationsövervakning

Fasta provtagningsytor (10 stycken):

Yta/Föremål	Area	Kompletterande beskrivning	
Arbetsbord	1dm ²	Slumpvis vald plats	Sprita av bordet. Låt det torka innan du topsar
Hylla i kylskåp	1dm ²	Slumpvis vald plats	Topsa direkt
Blyertspenna	Hela	-	Ta pennan direkt ur torkstället. Topsa ej stiftet
Panel för höjdjustering av arbetsbord	Hela	-	Hela panelen topsas, inklusive knappar
Ovanpå lådhurts	1dm ²	Slumpvis vald plats	-
Leukomalakit-grönreagens-ställ	1dm ²	Över- och undersida	Ej i flaskhållare
Kanister - handtag	hela	På och under handtaget (i "gropen")	-
Hylla för kanistrar och engångsmaterial	1dm ²	Slumpvis vald plats	Flytta ingenting, utan topsa på en "öppen" yta
Kant på ett arbetsbord	1dm ²	Slumpvis vald plats	-
Handtag till kyl	hela	-	-

Valbara provtagningsytor (5 stycken, varav minst 1 "smutsig"):

Yta/Föremål	Area	Kompletterande beskrivning	
Lådhandtag (lådhurts)	hela	-	-
Bänkpappersrulle	1dm ²	Slumpvis vald plats	Topsa på det exponerade pappret. Ska varit exponerat minst över natten.
Ställ för handsklådor	hela	yta ut mot rummet	-
Crimescope	1dm ²	kring lampans sista del	-
Kanister för rör	1dm ²	inuti botten	-
Kanister för rör	1dm ²	insida lock	-
Märkpenna	hela	-	ta av korken och topsa ej spetsen

Handsklåda	-	runt och i öppningen	-
Spritflaska	-	botten	-
Minitejp	-	-	Ska sitta i 24 timmar
Pulpet	1dm ²	Slumpvis vald plats	"smutsig"
Datamus	hela	ovansida och skrollhjul	"smutsig"
Databord	1dm ²	Slumpvis vald plats	"smutsig"
Bläckpenna	hela		"smutsig" . Topsa ej spetsen
Tejphållare	hela	handtaget	"smutsig"

Provtagning sker med dubbeltopsning 1 gång i månaden, innan veckostädningen. 15 prover tas, 10 fasta och 5 valbara. Bland de valbara ska det, vis varje provtagningstillfälle, alltid finnas minst en "smutsig" yta. I övrigt ska de valbara ytorna/föremålen grupperas på ett sådant vis att alla valbara ytor/föremål topsas minst en gång i halvåret.

ISSN 1651-5196 Nr 121
Uppsala 2011

Institutionen för växtbiologi och skogsgenetik
Uppsala Biocenter, SLU
Box 7080, Genetikvägen 5
750 07 Uppsala